

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-327584

(43)Date of publication of application : 13.12.1996

(51)Int.Cl. G01N 27/333

(21)Application number : 07-136903 (71)Applicant : TOKUYAMA CORP

(22)Date of filing : 02.06.1995 (72)Inventor : TAIRA HIROAKI
YANAGI HIROYUKI

(54) ION-SELECTIVE ELECTRODE AND METHOD FOR MEASURING ION CONCENTRATION

(57)Abstract:

PURPOSE: To measure ion concentrations precisely and easily by using an ion-selective electrode that shows stable potential over a long period because it has an oxidation reduction layer and that can be manufactured easily because the oxidation reduction layer is made up of a self-forming monomolecular film.

CONSTITUTION: This ion-selective electrode comprises a metallic electrode layer made of gold, silver or copper metal, an oxidation reduction layer composed of a monomolecular film layer made from a ferrocene group coupled via a group that can be coupled with the metallic electrode layer, and an ion-sensitive film layer which reacts selectively to sodiumion ion, potassium ion, chloride ion, with all of the layers stacked one after another in that order. This method for measuring the concentration of ions in a sample solution uses the same.

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-327584

(43)公開日 平成8年(1996)12月13日

(51)Int.Cl.⁹

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 27/333

G 0 1 N 27/30

3 3 1 F

3 3 1 C

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 13 頁)

(21)出願番号 特願平7-136903

(22)出願日 平成7年(1995)6月2日

(71)出願人 000003182

株式会社トクヤマ

山口県徳山市御影町1番1号

(72)発明者 平 浩昭

山口県徳山市御影町1番1号 株式会社ト
クヤマ内

(72)発明者 柳 裕之

山口県徳山市御影町1番1号 株式会社ト
クヤマ内

(54)【発明の名称】 イオン選択性電極およびイオン濃度の測定方法

(57)【要約】

【構成】 金、銀または銅金属よりなる金属電極層、該金属電極層と結合可能な基を介して結合されたフェロセン基よりなる単分子膜層から構成された酸化還元層、ナトリウムイオン、カリウムイオン、クロロイオン等を選択的に応答するイオン感応膜層の各層が順に積層されてなるイオン選択性電極とそれを用いた試料溶液中のイオン濃度の測定方法に関する。

【効果】 本発明のイオン選択性電極は酸化還元層を有するため長期に渡って安定な電位を示すとともに、該酸化還元層が自己形成型の単分子膜から成っているため、容易に製造可能である。本発明のイオン選択性電極を用いることにより正確かつ簡便にイオン濃度の測定が可能となる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 (A) 金、銀、または銅金属よりなる金属電極層、(B) 酸化還元層および (C) イオン感応膜層が順に積層されてなり、(B) 酸化還元層は、化学結合可能な結合基を介して (A) 金属電極層と結合したフェロセン基の単分子膜層から構成されていることを特徴とするイオン選択性電極。

【請求項 2】 請求項 1 記載のイオン選択性電極および比較電極に試料溶液を接触させ、両電極間の電位差を測定することにより、試料溶液中のイオン濃度を定量することを特徴とするイオン濃度の測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は溶液中のイオン濃度測定用のイオン選択性電極に関する。詳しくは、構造が簡単でかつ電位安定性の優れたイオン選択性電極とそれを用いるイオン濃度の測定方法である。

【0002】

【従来の技術】 近年、イオン選択性電極を医療用に応用し、血液や尿等の生体液中に溶解しているイオン、例えばナトリウムイオン、カリウムイオン、塩素イオンなどの定量を行う試みがさかんに行われている。これは、生体液中の特定のイオン濃度が生体の代謝反応と密接な関係にあることに基づいて該イオン濃度を測定することにより、高血圧症状、心臓疾患、腎疾患、神経障害等の種々の診断を行うものである。

【0003】 一般に、イオン選択性電極は、図 1 に示すように試料液に浸漬する部分（一般には底部）に境界膜としてイオン感応膜 12 を設けて構成された筒状容器 11 中に、内部電解液 13 及び内部基準電極 14 を設けることにより基本的に構成される。かかるイオン選択性電極を用い、溶液中のイオンの濃度の測定を行うためのイオン測定装置の代表的な構造を図 2 に示す。即ちイオン選択性電極 21 は塩橋 22 と共に試料溶液 23 に浸漬され、塩橋の他の一端は比較電極 24 と共に飽和塩化カリウム溶液 26 に浸漬される。両電極間の電位差はエレクトロメータ 25 で読み取られ、該電位差より試料溶液中の特定のイオン種のイオン濃度を求めることができる。

【0004】 時代は重厚長大から軽薄短小へと流れている。この流れは計測機器の開発動向にも影響を及ぼしており、機能性能を保持した上での軽量小型化に関して多大な労力がつぎ込まれている。近年の高感度化、小型化された分析機器の上市はこれらの努力の成果であり、分析実験室における機器の占有面積の省スペース化に大きく貢献している。イオン選択性電極に関しても同様であり、機器の占有スペースの低減、試料量の低減、測定後の廃液量の低減等を目指して小型化の必要性が叫ばれている。

【0005】 従来用いられている上記イオン選択性電極は内部電解液が必要であり、イオン選択性電極を小型化

する際に、

・液体を用いるため一定量以上の容器を必要とする。

【0006】 ・量を少なくすると溶媒の蒸発による性能劣化が問題となる。

【0007】 ・内部基準電極／内部電解液／イオン感応膜を確実に接触させるために構造的な制約がある等の問題が指摘されている。また、内部電解液を有するイオン選択性電極は製造過程が非常に煩雑になるため製造の自動化が困難であり、コストが高くなるという問題点も有する。

【0008】 近年、この様な問題点を解決するために内部電解液の無い、即ち、内部基準電極にイオン感応膜を直接接触させた形態のイオン選択性電極が提案されている。該内部液のないイオン選択性電極の内部基準電極としては、(a) 金属電極、(b) 銀／塩化銀、(c) 電解重合膜等がある。(a) は金や白金等の金属をそのまま内部基準電極として用いるため、電極の作製は容易である。しかしながら、内部基準電極の電位が安定化しにくく、長時間の電位の安定性が悪いという欠点がある。

(b)、(c) を内部基準電極とした場合、電位の安定性に優れるものの、電極作製時の操作が煩雑であるという欠点を有する。即ち、(b)、(c) の電極は電解質溶液中などで電気を流すことによって形成されるため、特別な装置が必要な上、得られる電極の電位の再現性が悪いという問題点が知られている。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】 従って、製造が容易で簡単な構造を持ち小型化が可能でかつ長期に渡って安定な電極電位を有するイオン選択性電極の開発が望まれていた。

【0010】

【課題を解決するための手段】 本発明者等は、かかる問題点を解決し得るイオン選択性電極を開発すべく鋭意研究を重ねた。その結果、特定の構造のフェロセン基を有する化合物からなる単分子膜を金属電極とイオン感応膜の中間層として用いることにより、製造が容易でかつ良好な電極応答を有するイオン選択性電極が得られることを見出し本発明を完成するに至った。

【0011】 即ち、本発明は、(A) 金、銀、または銅金属よりなる金属電極層、(B) 酸化還元層および

(C) イオン感応膜層が順に積層されてなり、(B) 酸化還元層は、化学結合可能な結合基を介して (A) 金属電極層と結合したフェロセン基の単分子膜層から構成されていることを特徴とするイオン選択性電極である。

【0012】 他の発明は、上記イオン選択性電極および比較電極に試料溶液を接触させ、両電極間の電位差を測定することにより、試料溶液中のイオン濃度を定量することを特徴とするイオン濃度の測定方法である。

【0013】 本発明に用いる金、銀、または銅金属よりなる金属電極層は、酸化還元層を電極表面に安定に且つ

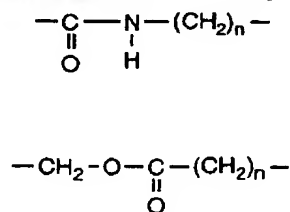
強固に保持させ、電気的な導通を持つことで内部基準電極の電位の測定を容易にするという役割を持つ。金属電極層が金、銀、または銅であると、酸化還元層との接着性が良好でかつ作製も容易であるため好ましい。これら以外の金属を用いた場合酸化還元層との接着性が悪く、酸化還元層を形成する分子がイオン感応膜中に拡散し、電位の安定性が悪くなる場合がある。

【0014】金、銀、銅金属のうち、該金属電極層として金を用いると電極と酸化還元層の結合がより強固となり安定した電位が得られるため特に好適である。

【0015】金属電極層は該金属のみで構成されていてもよく、あるいは適当な絶縁基板上に薄層として形成されていても構わない。基板上に薄層として形成された場合の金属電極層の層厚としては10nm～1mmであることが望ましい。10nm以下である場合、導電性が小さくなりイオン選択性電極の電位安定性が悪くなる場合がある。また、1mm以上であると基板との段差が大きくなりイオン感応膜との接着性が悪くなる場合がある。金属電極層が該金属のみで構成されている場合には、金属電極層の層厚は1mm～10mmであることが望ましい。1mm以下である場合には操作性に難があり、10mm以上の場合にはコストが高くなる。

【0016】前記絶縁基板としては、絶縁性の板であれば公知の材料が使用可能であるが、入手の容易さ、加工性の良さを勘案するとホウケイ酸ガラス、石英ガラス等のガラス、ポリ塩化ビニル、ポリテトラフルオロエチレン、ポリイミド等のプラスチック、アルミナ、窒化アルミ等のセラミックが好適に採用される。これら絶縁基板上への金属電極層の形成方法としては、無電解メッキ、スパッタ、蒸着等が特に制限されることなく用いられる。

【0017】本発明のイオン選択性電極を構成する酸化還元層は、内部基準電極の電位を一定にするのに必須であり、該電位は酸化還元層に含まれる酸化体と還元体の濃度比により内部基準電極の電位は決定される。本発明の酸化還元層はフェロセン基の単分子膜層から基本的に構成され、当該フェロセン基は金属電極層と化学結合可能な結合基を介して金属電極層に結合している。



但し、nは2～10の整数、mは1～3の整数、R₁、R₂、R₃、R₄は水素またはハロゲンまたはアルキル基またはニトロ基を示す。

【0018】金属電極層と化学結合可能な結合基は特に限定されないが、金属と主として配位結合で結合しうる結合基が好適に用いられる。他の結合様式の結合基を用いた場合、酸化還元層がイオン感応膜層に溶解し、得られるイオン選択性電極の電位が不安定になる場合がある。

【0019】金属と主として配位結合で結合する結合基は、通常該結合基となりうる官能基を有する化合物から誘導して形成される。特に好適な当該官能基を例示すれば、チオール基、ジスルフィド基、スルフィド基等が挙げられ、これらの官能基は結合基を形成して金属と強固な結合し、本発明の酸化還元層が簡便な操作で得られるため特に好適である。チオール基、ジスルフィド基、スルフィド基から誘導、形成される結合基と固体状態の金属との間の結合様式の詳細は、現時点では十分に解明されていないが、チオール基、ジスルフィド基の場合は金属—チオレート結合を形成していると推測される。また、スルフィド基の場合は硫黄上の非共有電子対と金属との間に配位結合を形成していると推測される。

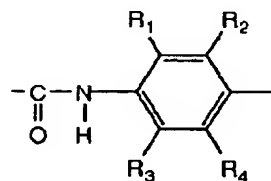
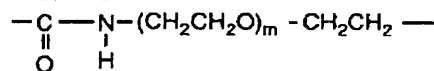
【0020】本発明の酸化還元層におけるフェロセン基とはフェロセンの1つの水素原子が、適当な2価の有機基（以下スペーサーと略記する）で置換された構造の基を言い、該フェロセン基は上に述べた結合基を介して金属電極層と化学的に結合している。尚、本発明中でフェロセンとは2価の鉄を含むフェロセンと3価の鉄を含むフェリシニウムを含んだ意味で用いる。フェリシニウムの場合は、対イオンとして公知のアニオンを含有する。

【0021】上記フェロセン基中のスペーサーは炭素、窒素および／または酸素からなる主鎖を有し、該主鎖の原子数が3～12のものが好適に使用される。主鎖の原子数が3より小さい場合得られる酸化還元層が不安定となりイオン選択性電極の電位が不安定となる場合がある。主鎖の原子数が12より大きい場合、得られるイオン選択性電極の絶対電位が不安定となる場合がある。

【0022】上記スペーサーとして好適なものを具体的に例示すれば以下のとおりである。即ち、

【0023】

【化1】



【0024】（上記スペーサーにおいて、右端が結合基 50 と、左端がフェロセンと結合する）等である。

【0025】尚、本発明のフェロセン基に含まれる鉄イオンの酸化数は2または3であることが、得られるイオン選択性電極が安定な電位を示すために必須である。ここで酸化数2の鉄イオンを含むフェロセン基(還元体)は酸化されて酸化数3の鉄イオンを含むフェロセン基(酸化体)になる。酸化数2の鉄イオンと酸化数3の鉄イオンの比は特に限定されないが、その比が0.01~100の範囲にある場合、得られるイオン選択性電極の絶対電位が安定となるため好適である。

【0026】本発明の酸化還元層は前記した金属電極層と化学結合可能な結合基を介して結合したフェロセン基の単分子膜層から構成されている。酸化還元層が単分子膜層であることにより、金属電極単位面積当たりのフェロセン基の量が一定となるため得られるイオン選択性電極の電位が安定する。単分子膜層でない場合、得られるイオン選択性電極の電気抵抗が上昇し、電位が不安定となる場合がある。

【0027】本発明の酸化還元層の製造方法は前記条件を満たすものであれば特に限定されず公知の製造方法が適用可能であるが、代表的には、前記金属電極層と結合可能な結合基となりうる官能基とフェロセン基を分子内に有する有機化合物(以下結合性フェロセン化合物と略記する)を適当な溶媒に溶解し、その溶液中に前記金属電極層を一定時間浸漬する方法が好適に採用される。この方法により、簡便にかつ再現性よく本発明の酸化還元層が製造可能となる。

【0028】前記結合性フェロセン化合物として、ビス(フェロセノイルアミノ)シスタミン、[ビス(2-フェロセノイルアミド)] 5, 5'-ジチオジ-1, 3, 4-チアジアゾール、4, 4'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)アニリン、ビス(フェロセンカルボン酸)-4, 4'-ジチオジフェノラート、ビス(フェロセンカルボン酸)-2, 2'-ジチオジエチラート、ビス(フェロセノイルオキシ)-2, 2'-ジヒドロキシジチオジプロパン、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (4, 4'-ジブチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (4, 4'-ベンジルカルボキシアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (5, 5'-ジペンチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (11, 11'-ジウンデカノイルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、3, 3'-ジチオビス(フェロセニルメチル)プロピオネート、11, 11'-ジチオビス(フェロセニルメチル)ウンデカネート、2, 2'-ジチオビス(フェロセニルメチル)イソプロピオネート、4, 4'-ジチオビス(フェロセニルメチル)ジヒドロケイ皮酸エステル、2, 2'-ジチオテトラキス(フェロセニルメチル)ジブタン二酸、3, 3'-ジチオビス(フェロセノイルア

ミノ)プロパン、4, 4'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)ブタン、5, 5'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)ペンタン、6, 6'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)ヘキサン、7, 7'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)ヘプタン、8, 8'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)オクタン、9, 9'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)ノナン、10, 10'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)デカン、11, 11'-ジチオビス(フェロセノイルアミノ)ウンデカン、ビス(フェロセンカルボン酸)-3, 3'-ジチオジプロピオネート、ビス(フェロセンカルボン酸)-4, 4'-ジチオジブチラート、ビス(フェロセンカルボン酸)-5, 5'-ジチオジペンチラート、ビス(フェロセンカルボン酸)-6, 6'-ジチオジヘキシラート、ビス(フェロセンカルボン酸)-7, 7'-ジチオジヘプチラート、ビス(フェロセンカルボン酸)-8, 8'-ジチオジオクチラート、ビス(フェロセンカルボン酸)-9, 9'-ジチオジノニラート、ビス(フェロセンカルボン酸)-10, 10'-ジチオジデカネート、ビス(フェロセンカルボン酸)-11, 11'-ジチオジウンデカネート、ビス(フェロセニルメチルジエチル- (4, 4'-ジブチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (5, 5'-ジペンチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジエチル- (5, 5'-ジペンチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (6, 6'-ジヘキシルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジエチル- (6, 6'-ジヘキシルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (7, 7'-ジヘプチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジエチル- (7, 7'-ジヘプチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (8, 8'-ジオクチルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジエチル- (9, 9'-ジノニルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジメチル- (10, 10'-ジデシルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、ビス(フェロセニルメチルジエチル- (10, 10'-ジデシルアミノ)アンモニウム)シスタミンジプロマイド、4, 4'-ジチオビス(フェロセニルメチル)ブチレート、5, 5'-ジチオビス(フェロセニルメチル)ペンチレート、6, 6'-ジチオビス(フェロセニルメチル)ヘキシレート、7, 7'-ジチオビス(フェロセニルメチル)ヘプチレート、

8, 8'-ジチオビス(フェロセニルメチル) オクチレート、9, 9'-ジチオビス(フェロセニルメチル) ノニレート、10, 10'-ジチオビス(フェロセニルメチル) デカネート、等の化合物が特に好適に用いられる。

【0029】上記結合性フェロセン化合物の合成方法は一般に公知の方法を組合わせて合成することができるが、次に示す方法が効率良く合成できるため好適に採用される。フェロセンカルボン酸をオキサリクロリドと反応させることで、フェロセンカルボン酸の酸塩化物が高収率で得られる。これと分子内にアミノ基、水酸基等の反応性官能基を有するジスルフィドまたはスルフィドと反応させることで容易にフェロセン基を導入することが可能である。生成物はプロトンNMRにより同定可能であり、4.3~4.8 ppmにフェロセン基の水素が、2.6~3.0 ppmにジスルフィド基の隣のメチレンの水素に基づくシグナルが観測される。

【0030】前記酸化還元層製造時の溶媒としては、上記結合性フェロセン化合物が溶解するものであれば特に制限されず公知の溶媒が使用可能であるが、洗浄および洗浄後の乾燥工程の操作性を考慮し、揮発性の溶媒が好ましい。一般に好適に採用される溶媒を例示すれば以下のとおりである。即ち、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、四塩化炭素、クロロホルム、塩化メチレン、アセトン、アセトニトリル、ジオキサン、テトラヒドロフラン、水等が好適に用いられる。

【0031】本発明の酸化還元層の生成は、一般にサイクリックボルタモグラムを測定することにより、確認できる。この時、フェロセン基が存在すれば300mV~600mV(銀塩化銀電極に対する電位)に酸化および還元に対応するピークが観測される。さらに、ピーク面積と掃引速度より酸化還元層中のフェロセン基の量が求まる。

【0032】前記サイクリックボルタモグラムは公知の方法[藤嶋 昭、相沢益男、井上徹、「電気化学測定法(下)」、技報堂、p442、(1984)に記載の方法]によって測定される。即ち、測定しようとする電極と対極、参照電極を用いる3極式のセルを用い、測定しようとする電極に所定の電位を印加し掃引することで電圧-電流曲線を得るものである。

【0033】前記酸化還元層製造時の浸漬時間は、配位結合可能な結合基とそれを持つ結合性フェロセン化合物の構造により最適値が存在する。未被覆の金属電極表面では、予期しない酸化還元反応が起る可能性があるため未被覆の金属電極表面をできるだけ減らすことが望ましい。従って、チオール基を有する結合性フェロセン化合物の場合10分以上、好適には2~3時間、ジスルフィド基またはスルフィド基を有する結合性フェロセン化合物の場合数時間以上、好適には12時間以上浸漬することにより、酸化還元層中のフェロセン基の濃度を高

めることができ、金属電極表面をほぼ完全に被覆できる。

【0034】本発明に用いるイオン感応膜層は、試料液中の特定のイオン濃度に応じた膜電位を発生させ、目的イオンに対してのみ感度よく応答させるために必要である。該イオン感応膜層としては、イオン濃度に応じた膜電位を発生する膜であれば特に限定されず、当該分野で公知のイオン感応膜が使用可能である。

【0035】一般に、(a)高分子化合物、可塑剤、およびイオノフォアを主成分とするイオノフォア型イオン感応膜、(b)イオン交換性基が共有結合で導入された高分子化合物を主成分とするイオン交換型イオン感応膜、の2種類が本発明の酸化還元層と接着性がよいので好適に用いられる。

【0036】本発明のイオン選択性電極は、通常水溶液中で使用されるため、前記イオノフォア型イオン感応膜の高分子化合物は水に溶解しないものであることが好ましい。イオノフォア型イオン感応膜に使用される高分子化合物として好適なものを例示すると、例えば、塩化ビニル、臭化ビニル、塩化ビニリデン等のハロゲン化ビニルの単独重合体または共重合体；シロキサン重合体または共重合体；酢酸セルロース、硝酸セルロース等の繊維素誘導体が挙げられる。特に、ハロゲン化ビニルの単独重合体または共重合体、または、シロキサン重合体または共重合体が本発明のイオン選択性電極を生体液中で使用した場合に寿命が長く好適である。

【0037】前記イオノフォア型イオン感応膜に用いる可塑剤は特に限定されず公知のものを使用できるが、好適に使用できるものを例示すれば以下の通りである。即ち、ジメチルフタレート、ジエチルフタレート、ジオクチルフタレート、等のフタル酸エステル類；ジオクチルアジペート、ジオクチルセバケート等の脂肪酸エステル類；オルトニトロフェニルオクチルエーテル、オルトニトロフェニルフェニルエーテル、2-フルオロ-2'-ニトロフェニルエーテル等のオルトニトロフェニルエーテル類等である。これらの可塑剤の添加量は陰イオン感応膜の使用目的に応じて適宜選択すればよいが、一般には高分子化合物100重量部に対して可塑剤を30~300重量部の範囲で選べば好適である。

【0038】前記イオノフォア型イオン感応膜に用いるイオノフォアとしては、当該分野で公知のイオン感応膜用イオノフォアが使用可能である。一般に該イオノフォアとしては測定対象のイオンによって決定され、好適に用いられるものを例示すれば以下のとおりである。

【0039】カリウムイオン選択性電極：バリノマイシン、ビス[(ベンゾ-15-クラウン-5)-4-メチル]ピメレート、15クラウン5誘導体、ナトリウムイオン選択性電極：モネンシン、ビス[(12-クラウン-4)メチル]メチルドデシルマロネート、12クラウン4誘導体、カリックスアレン誘導体、

クロロイオン選択性電極：4級アンモニウム塩誘導体、
ボルフィリン金属錯体、有機スズ化合物、
カルシウムイオン選択性電極：ジ-n-オクチルフェニル
フォスフォネート、

リチウムイオン選択性電極：6, 6-ジベンジル-1,
4, 8, 11-テトラオキサシクロテトラデカン等である。

【0040】本発明に用いるイオノフォア型イオン感応膜の製造方法は従来公知の方法が採用される。一般に好適に採用される代表的な製造方法を例示すれば次の通りである。前記イオノフォアを高分子化合物、可塑剤と共に有機溶媒に溶解し、該溶液を酸化還元層上に塗布または流し込んだ後、有機溶媒を蒸発せしめてイオン感応膜とする方法が挙げられる。この時必要に応じて、カリウムテトラフェニルボレート、カリウムテトラキス（トリフルオロメチルフェニル）ボレート等の脂溶性有機塩化合物を添加しても構わない。また、事前にガラスシャーレなどの基板上に同様にして製造したイオン感応膜を、酸化還元層の上に貼りつける方法も好適に採用される。

【0041】上記有機溶媒としては、高分子化合物、可塑剤及びイオノフォアを溶解するものであれば公知のものがなんら制限されず使用し得る。一般に好適に用いられる有機溶媒を具体的に例示すれば、テトラヒドロフラン、ジオキサン、クロロホルム、塩化メチレン、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ベンゼン、トルエン等が挙げられる。

【0042】上記に示した方法により得られるイオン感応膜は、一般に均一な膜となる。本発明のイオン感応膜の膜厚は、用いる構成成分の量と膜面積を調整することにより制御可能であるが、イオン選択性電極として使用する際の操作性を勘案して1 μm ~ 1 mmの範囲であることが望ましい。前記イオン交換型イオン感応膜に用いるイオン性基が共有結合で導入された高分子化合物としては、トリメチルアンモニオメチルスチレン共重合体、トリメチルアンモニオエチルメタクリレート共重合体、ジオクタデシルメチルアンモニオメチルスチレン重合体および共重合体等を用いた場合、酸化還元層との密着がよいため好適である。

【0043】イオン交換型イオン感応膜の製造方法は従来公知の方法が採用される。一般に好適に採用される代表的な製造方法を例示すれば次の通りである。前記イオン性基が共有結合で導入された高分子化合物を有機溶媒に溶解し、該溶液を酸化還元層上に塗布または流し込んだ後、有機溶媒を蒸発せしめてイオン感応膜とする方法が挙げられる。また、事前にガラスシャーレなどの基板上に同様にして製造したイオン感応膜を、酸化還元層の上に貼りつける方法も好適に採用される。

【0044】上記有機溶媒としては、高分子化合物を溶解するものであれば公知のものがなんら制限されず使用し得る。一般に好適に用いられる有機溶媒を具体的に例

示すれば、テトラヒドロフラン、ジオキサン、クロロホルム、塩化メチレン、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ベンゼン、トルエン等が挙げられる。

【0045】上記に示した方法により得られるイオン感応膜は、一般に均一な膜となる。本発明のイオン感応膜の膜厚は、用いる構成成分の量と膜面積を調整することにより制御可能であるが、イオン選択性電極として使用する際の操作性を勘案して1 μm ~ 1 mmの範囲であることが望ましい。

【0046】本発明のイオン選択性電極は図3に例示するように、試料液に浸漬する部分に境界膜としてイオン感応膜35を設け、イオン感応膜と金属電極33の間に、酸化還元層34を設けることにより基本的に構成される。尚、電極を絶縁性基板31の上に作製する場合には、基板と電極の接着性をあげるために必要に応じて下地金属層32を金属電極と絶縁性基板の間に形成させる。各層の製造方法は前述した通りである。

【0047】本発明のイオン選択性電極を用いて試料溶液中のイオン濃度を定量する方法は公知の方法で使用する事ができる。例えば、図4に示した使用態様が代表的である。即ち、イオン選択性電極41は塩橋42と共に試料溶液43中に浸漬され、塩橋の他の一端は比較電極44と共に飽和塩化カリウム溶液46に浸漬される。上記比較電極としては一般に公知のものが採用されるが、好適に使用されるものを例示すれば、カロメル電極、銀-塩化銀電極、白金板、カーボングラファイト等である。

【0048】上記装置で、試料のイオン濃度を測定する際の一般的な測定操作は次の通りである。即ち、検出しようとするイオン濃度が既知で、かつ異なる濃度の2つの標準液についてイオン選択性電極と比較電極の間に生じた電位を各々測定し予め検量線を作成する。次いで、未知濃度のイオンを含む試料溶液について、イオン選択性電極と比較電極の間に生じた電位を測定し、検量線に外挿することで試料溶液のイオン濃度が求まる。

【0049】

【発明の効果】本発明のイオン選択性電極は、酸化還元層を金属電極層とイオン感応膜層の間に有するため、電極電位が長期に渡って安定している。更に、酸化還元層が自己会合型の単分子膜からなっているため、イオン選択性電極の製造が著しく容易でかつ小型化が可能となっている。したがって、溶液中のイオン濃度が正確かつ簡便に測定可能である。以上の点より、本発明のイオン選択性電極の工業的価値は極めて大きい。

【0050】

【実施例】以下に本発明をさらに具体的に説明するために実施例を挙げるが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【0051】尚本実施例中において、プロトンNMRを ^1H NMR、テトラメチルシランをTMSと略記する。

【0052】製造例1

50mlのフェロセンカルボン酸1.0g(4.3mmol)をジクロロメタン20mlと混合し、氷冷下オキサリクロリド2mlを加え2.5時間攪拌した後、溶媒及び未反応のオキサリクロリドを減圧留去し、精製せずにつぎの反応に用いた。

【0053】二塩酸シスタミン0.6gをジクロロメタン/水(pH~13)で抽出し、有機層を分取し溶媒を減圧留去した。このとき得られる遊離のシスタミン0.28g(2mmol)のジクロロメタン/トリエチルアミン=2/8の溶液(約30ml)に、先に得られたフェロセニルクロリド1.0g(4mmol)を加え14時間室温で攪拌した。

【0054】反応混合物をクロロホルム/水(pH12)、次いでクロロホルム/水(pH2)で抽出した(いずれもクロロホルム層を分取)。溶媒を減圧留去

し、残渣をシリカゲルカラム処理(クロロホルム/メタノール=9/1)することで黄色固体0.99g(収率87%)を得た。

【0055】精製物の¹HNMR(CDCl₃中、TMSを内部基準(0.0ppm)とする。)およびIR測定を行ない次に示す結果を得た。

【0056】¹HNMR: 6.6ppm(t; 1H、アミド-H)、4.3~4.8ppm(m; 9H、フェロセン-H)、3.7ppm(q; 2H、N-CH₂)、3.0ppm(t; 2H、S-CH₂)

IR: 1628cm⁻¹(C=O、アミドI)、1537cm⁻¹(NH、N-C=O、アミドII)

ここで得られた末端にフェロセン基を有するジスルフィドの構造を表1に示す。

【0057】

【表1】

表1

製造No.	フェロセン化したジスルフィドの構造
1	

【0058】製造例2

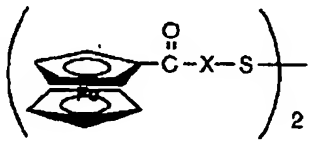
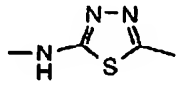
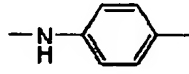
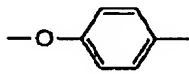
表2に示す二官能性ジスルフィド2mmolのジクロロメタン/トリエチルアミン=2/8の溶液(約30ml)に、フェロセニルクロリド1.0g(4mmol)を加え14時間室温で攪拌した。反応混合物をクロロホルム/水(pH12)で抽出し、クロロホルム層を分取

した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラム処理(クロロホルム/メタノール=9/1)し、ジスルフィド化合物にフェロセン基を導入した。得られた化合物の構造を表2に示す。

【0059】

【表2】

表2

製造No.	二官能性ジスルフィド化合物	
		X
2	5, 5' -ジチオジ(2-アミノ-1, 3, 4-チアジアゾール)	
3	4, 4' -ジチオジアニリン	
4	4, 4' -ジチオジフェノール	
5	2, 2' -ジチオジエタノール	$\text{—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$
6	α , α' -ジチオジグリセロール	$\text{—O—CH}_2\text{—CHOH—CH}_2\text{—}$

【0060】製造例3

(1) 4-ブロモ酪酸6.7g(40mmol)に塩化チオニル5g(42mmol)を加え室温で5時間攪拌した。気体が発生し終わった後、過剰の塩化チオニルを減圧留去し、塩化メチレン10mlを加えた。

【0061】シスタミン二塩酸塩4.5g(20mmol)をクロロホルム/NaOH水溶液(pH12)で抽出し、溶媒を減圧留去し、トリエチルアミン4g(40mmol)と塩化メチレンを加えた。先に得られた酸クロライドの塩化メチレン溶液に、この塩化メチレン溶液を徐々に滴下し室温で72時間攪拌した。反応終了後蒸留水を加え室温で1時間攪拌した後分液し、有機層を分取した。これを再度蒸留水で抽出し、有機層を分取し溶媒を減圧留去した。残渣をシリカゲルカラム処理(クロロホルム/メタノール=93/7)し、淡黄色固体4.0g(収率40%)を得た。

【0062】精製物の ^1H NMR(CDC $_3$ 中、TMSを内部基準(0.0ppm)とする。)測定を行ない次に示す結果を得た。

【0063】 ^1H NMR: 6.8ppm(s; 1H、アミド-H)、4.3ppm(t; 2H、Br-C $_2$ H $_4$)、3.6ppm(q; 2H、N-CH $_2$)、2.8ppm(t; 2H、S-CH $_2$)、2.4ppm(m;

2H、CO-CH $_2$)、2.2ppm(m; 2H、Br-C-CH $_2$)

(2) ビス-(4-ブロモブチルアミノ)シスタミン4g(8mmol)をベンゼン50mlに溶解し、N、N-ジメチルアミノフェロセン2.5g(10mmol)を加え6時間加熱還流した。シリカゲルカラム処理(クロロホルム/メタノール=4/1)、抽出(塩酸性水/クロロホルム)により反応混合物を精製し黄色固体を得た。

【0064】精製物の ^1H NMR(CDC $_3$ 中、TMSを内部基準(0.0ppm)とする。)測定を行ない次に示す結果を得た。

【0065】 ^1H NMR: 6.8ppm(s; 1H、アミド-H)、4.3~4.8ppm(m; 9H、フェロセン-H)、3.2~3.7ppm(m; 10H、N $^+$ -CH $_2$ 、N $^+$ -CH $_3$)、2.8ppm(t; 2H、S-CH $_2$)、2.2~2.4ppm(m; 4H、CO-CH $_2$ -CH $_2$ -)

ここで得られた末端にフェロセン基を有するジスルフィドの構造を表3に示す。

【0066】

【表3】

表3

製造No.	フェロセン化したジスルフィドの構造
7	

【0067】製造例4

遊離のシスタミン3g (20mmol) をトリエチルアミン4g (40mmol) と塩化メチレン10ml に溶解した溶液を、表4に示すカルボン酸の酸塩化物の塩化メチレン溶液 (40mmol/10ml) に徐々に滴下し室温で72時間攪拌した。反応終了後蒸留水を加え室温で1時間攪拌した後分液し、有機層を分取した。これを再度蒸留水で抽出し、有機層を分取し溶媒を減圧留去した。残渣をシリカゲルカラム処理 (クロロホルム/メ

タノール=93/7) した。これを8mmol 秤量してベンゼン50ml に溶解し、N、N-ジメチルアミノフェロセン2.5g (10mmol) を加え6時間加熱還流した。シリカゲルカラム処理 (クロロホルム/メタノール=4/1)、抽出 (塩酸性水/CHCl₃) により反応混合物を精製した。得られた、末端にフェロセン基を有するジスルフィドの構造を表4に示す。

【0068】

【表4】

表4

製造No.	カルボン酸	
		X
8	4-(ブロモメチル)安息香酸	
9	4-ブロモブタン酸	
10	11-ブロモウンデカン酸	

【0069】製造例5

フェロセンメタノール2g (9.3mmol) と3,3'-ジチオジプロピオン酸0.9g (4.3mmol) をテトラヒドロフラン50ml に溶解し、濃硫酸2ml を加え24時間加熱還流した。室温まで放冷した後クロロホルム/水 (pH7~8) で抽出し有機層を分取した。溶媒を減圧留去し残渣をシリカゲルカラム処理 (クロロホルム/メタノール=95/5) し、黄色固体1.5g (収率55%) を得た。

【0070】精製物の¹HNMR (CDCl₃中、TMS

を内部基準 (0.0ppm) とする。) 測定を行ない次に示す結果を得た。

【0071】¹HNMR: 4.3~4.8ppm (m; 9H、フェロセン-H)、3.8ppm (m; 2H、COO-CH₂-フェロセン)、2.8ppm (m; 4H、OCO-CH₂-CH₂-)

得られた化合物の構造を表5に示す。

【0072】

【表5】

表5

製造No.	フェロセン化したジスルフィドの構造
11	

【0073】製造例6

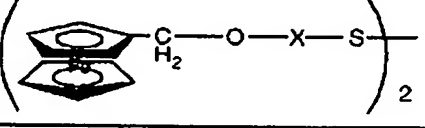
フェロセンメタノール2g (9.3mmol)と表6に示すカルボン酸4.3mmolをテトラヒドロフラン50mlに溶解し、濃硫酸2mlを加え24時間加熱還流した。室温まで放冷した後クロロホルム/水(pH7~8)で抽出し有機層を分取した。溶媒を減圧留去し残渣

をシリカゲルカラム処理(クロロホルム/メタノール=95/5)し、フェロセン基を導入したジスルフィド化合物を得た。得られた、末端にフェロセン基を有するジスルフィドの構造を表6に示す。

【0074】

【表6】

表6

製造No.	カルボン酸	
		X
12	11, 11' - ジチオジウンデカン酸	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-(\text{CH}_2)_{10}- \\ \text{O} \end{array}$
13	2, 2' - ジチオジプロピオン酸	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}- \\ \text{O} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
14	4, 4' - ジチオジヒドロクエイ皮酸	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-(\text{CH}_2)_2-\text{C}_6\text{H}_4- \\ \text{O} \end{array}$
15	2, 2' - ジチオジブタン二酸	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}_2- \\ \text{O} \quad \text{CH}- \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$

【0075】実施例1

図3に示すように、ガラス基板上にマスキングテープで所定の形状にマスキングを行ない、白金をスパッタリングしたあと続けて金をスパッタし厚さ60nmの金電極を得た。製造例1で得られた化合物(製造No. 1)のクロロホルム溶液(10mM)に上記金電極を24時間室温で浸漬し、製造例1で得られた化合物の単分子膜を金電極表面に形成させた。クロロホルムで充分洗浄した後、溶媒を乾燥させた。

【0076】得られた電極について前述の操作によりサイクリックボルタモグラムの測定したところ、ボルタモグラムのピーク面積と掃引速度から電極1cm²あたり0.1nmolのフェロセン基が電極表面に存在することが明らかとなった。この値は、金表面に上記化合物が単分子膜状に密にパッキングして存在していると考えた場合の値とほぼ一致することから、酸化還元層の層厚が単分子膜レベルであり、欠陥の少ない単分子膜を形成していることが示唆される。

【0077】この電極にカリウムイオン感応膜溶液をキャストし、溶媒を乾燥させることでカリウムイオン選択性電極を得た。カリウムイオン感応膜溶液には、高分子化合物としてポリ塩化ビニル200mg、可塑剤として

p-ニトロフェニルオクチルエーテル400mg、カリウムイオノフォアとしてビス[(12-クラウン-4)メチル]メチルドデシルマロネート40mgをテトラヒドロフラン20mlに溶解したものを用いた。

【0078】得られたカリウムイオン選択性電極を用いて以下に示す操作でカリウムイオン濃度の測定を行なった結果を表7に示す。なお測定は図4の装置を用いて以下の手順で行なった。10⁻³Mの塩化カリウム溶液43についてカリウムイオン選択性電極と比較電極の間の電位差を測定した。次に10⁻²Mの塩化カリウム溶液についても同様の測定を行ない、塩化カリウム濃度に対して電位をプロットすることで10⁻³M~10⁻²Mのスロープと検量線を得た。さらに、10⁻²Mの塩化カリウム溶液について電位差測定を10回繰り返して行ない、先に得られた検量線よりカリウムイオン濃度を計算し、10回の測定に対する変動係数(以下CVと略す)を求めた。表中の銀/塩化銀電極に対する電位は、試料溶液として10⁻⁴Mの塩化カリウム溶液(以下10⁻⁴MKClと略記する)を用い、10本の電極について平均値および標準偏差を算出したものである。

【0079】

【表7】

表7

		銀/塩化銀電極に対する電位 (電極数: 10)		スロープ (1 mM~10 mMの KCl)	CV (%)
		平均値 (mV)	標準偏差		
実施例1	酸化還元層あり	452	4.59	58.6	0.9
比較例1	酸化還元層なし	320	6.39	51.2	2.5

【0080】比較例1

製造例1で得られた化合物を用いずに金電極に直接カリウムイオン感応膜溶液をキャストし、溶媒を乾燥させることで得たカリウムイオン選択性電極に関する結果を表7に併せて示す。

【0081】表7よりわかるように、10本の電極の10⁻⁴M KCl中での絶対電位の標準偏差は酸化還元層がある方が優れており、本発明の有効性は明らかである。スロープに関しては、酸化還元層がある方が大きな値になっている。スロープが大きい場合、検量線から得られる試料濃度が高精度に測定可能となり有用である。ま

た、酸化還元層がある方がCVが小さくなっている。CVは測定の同時再現性を示す指標であり、本発明のイオン選択性電極が再現性の高い測定を可能にすることは明白である。

【0082】実施例2

製造例2~6で得られた化合物 (製造No. 2~15) を実施例1と全く同様にして金電極表面に吸着させ、実施例1と全く同様の実験を行なった。結果を表8にまとめて示す。

【0083】

【表8】

表8

	電極No.	製造No.	銀/塩化銀電極に対する電位 (電極数: 10)		スロープ (mV/dec. 1 mM~10 mMの KCl)	CV (%)
			平均値 (mV)	標準偏差		
実施例2	11	2	445	4.72	51.3	1.0
	12	3	441	4.76	56.2	0.9
	13	4	460	4.95	49.2	1.5
	14	5	455	5.16	57.6	1.1
	15	6	450	5.03	55.1	1.3
	16	7	472	4.82	53.5	0.8
	17	8	466	5.35	57.1	1.2
	18	9	470	4.98	50.4	1.8
	19	10	460	4.85	48.7	2.1
	20	11	325	5.21	52.8	0.9
	21	12	338	5.76	56.5	2.5
	22	13	312	4.79	52.9	1.3
	23	14	347	4.61	50.5	1.3
	24	15	364	5.08	54.3	0.9
比較例2	比較電極1		326	5.96	53.8	0.9
	比較電極2		286	6.28	47.6	1.5

【0084】比較例2

3, 3'-ジブチルジスルフィド、フェロセンの各クロロホルム溶液を用いて実施例1と全く同様の実験を行なった。結果を表8に併せて示す。

【0085】表8からわかるように、フェロセン基とチオール基またはジスルフィド基の間の構造に関係なく、これらの物質を用いた場合には3, 3'-ジブチルジスルフィド、フェロセンを用いた場合に比較して安定な電

位を与えることがわかる。

【0086】実施例3

金属電極として金、銀、銅を用いて、実施例1と全く同様にして製造例1で得られた化合物 (製造No. 1) を金属電極表面に吸着させ、実施例1と全く同様の実験を行なった。結果を表9にまとめて示す。

【0087】

【表9】

表9

	電極No.	金属	絶対電位 (電極数: 10)		スロープ (mV/dec. 1 mM~10 mMの KCl)	CV (%)
			平均値 (mV)	標準偏差		
実施例3	25	金	452	4.59	58.6	0.9
	26	銀	378	5.35	52.5	1.5
	27	銅	486	5.92	54.2	3.6
比較例3	比較電極3	鉄	493	8.15	50.4	4.2
	比較電極4	白金	232	5.86	51.6	3.5

【0088】比較例3

鉄、白金を用いて実施例1と全く同様の実験を行なった。結果を表9に併せて示す。表9からわかるように金、銀、銅では電位が安定しているのに対し、比較例では電極によって電位にばらつきがあることがわかる。

【0089】実施例4

実施例1と全く同様にして製造例1で得られた化合物（製造No. 1）を金電極表面に吸着させ、カリウム感応膜、ナトリウム感応膜、クロル感応膜を用いて実施例1と同様の実験を行なった。なお、カリウム感応膜、ナ

表10

	電極No.	高分子化合物		可塑剤		イオノフォア		スロープ mV/dec	CV (%)
		名称	量(mg)	名称	量(mg)	名称	量(mg)		
K	28	ポリ塩化ビニル	200	o-ニトロフェニルオクチルエーテル	400	15c5	30	58.6	0.9
	29	ポリ塩化ビニリデン	200	o-ニトロフェニルオクチルエーテル	400	15c5	30	54.3	1.0
	30	ポリ塩化ビニリデン	200	ジエチルフタレート	400	15c5	30	56.1	1.3
Na	31	ポリ塩化ビニル	200	o-ニトロフェニルオクチルエーテル	400	12c4	30	57.0	0.7
	32	ポリ塩化ビニリデン	200	o-ニトロフェニルオクチルエーテル	400	12c4	30	56.6	1.2
	33	ポリ塩化ビニリデン	200	ジエチルフタレート	400	12c4	30	54.8	0.9
Cl	34	ポリ塩化ビニル	200	o-ニトロフェニルオクチルエーテル	400	TPP-Mn	30	52.1	1.3
	35	ポリ塩化ビニリデン	200	o-ニトロフェニルオクチルエーテル	400	TPP-Mn	30	51.3	1.3
	36	ポリ塩化ビニリデン	200	ジエチルフタレート	400	TPP-Mn	30	54.9	1.8
	37	ポリジオクタデシルメチルアンモニオメチルスチレン	600	—	—	—	—	50.2	1.0

【0091】実施例5

実施例1と全く同様にして製造例1で得られた化合物（製造No. 1）を金電極表面に吸着させ、クロル感応膜を用いて実施例1と同様の実験を行なった。なお、クロル感応膜はジオクタデシルメチルアンモニオメチルスチレン重合体を用いた。結果を表10に併せて示す。

【0092】実施例6

実施例1と同様にして製造例1に示した化合物（製造No. 1）を吸着させ、図5に示す形状の金電極を得た。感応膜を流し込む部分1mm²とリードを取る部分を残してエポキシ樹脂53で被覆した。この電極の未被覆部分にカリウムイオン感応膜溶液を流し込み、溶媒を乾燥させてカリウムイオン感応膜54で被覆することでカリウムイオン選択性電極を得た。得られた電極の形状を図5に示す。なお、カリウムイオン濃度の測定は、図4の装置を用いて行なった。結果を図6に示す。

【図面の簡単な説明】

【図1】 内部液を用いる一般的なイオン選択性電極の一例の構成を示す断面図である。

【図2】 図1のイオン選択性電極を用いて電位差を測定する装置の説明図である。

30 【図3】 本発明の内部液を用いないイオン選択性電極の一例の構成を示す分解図である。

【図4】 図3のイオン選択性電極を用いて電位差を測定する装置の説明図である。

【図5】 本発明を用いてコンパクト化したイオン選択性電極の説明図である。

【図6】 図5のイオン選択性電極を用いて測定したイオン濃度応答である

【符号の説明】

- 11 電極筒体
- 12 イオン感応膜
- 13 内部電解液
- 14 内部基準電極
- 15 Oリング
- 21 イオン選択性電極
- 22 塩橋
- 23 試料溶液
- 24 比較電極
- 25 エレクトロメーター
- 26 飽和塩化カリウム水溶液
- 27 記録計

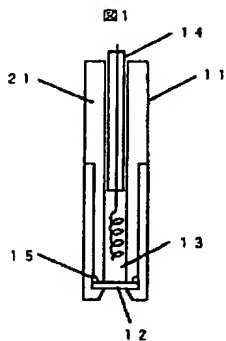
23

24

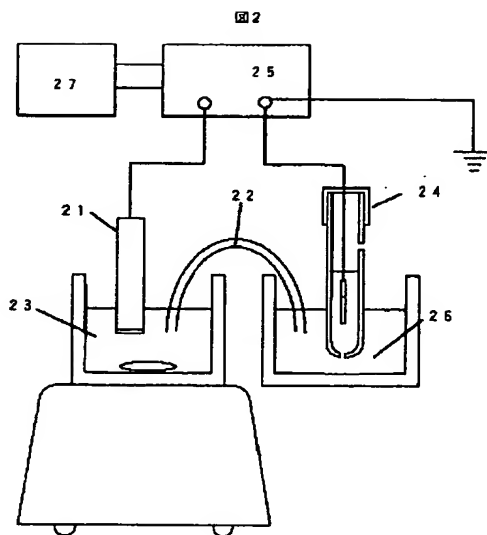
- 31 絶縁性基板
- 32 下地金属
- 33 金属電極
- 34 酸化還元層
- 35 イオン感応膜
- 41 イオン選択性電極
- 42 塩橋
- 43 試料溶液

- 44 比較電極
- 45 エレクトロメーター
- 46 飽和塩化カリウム水溶液
- 47 記録計
- 51 金属電極
- 52 絶縁性基板
- 53 エポキシ樹脂
- 54 カリウムイオン感応膜

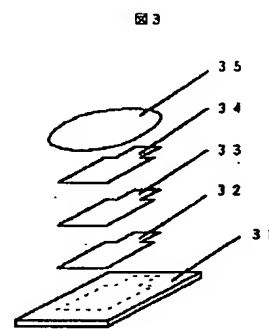
【図1】



【図2】

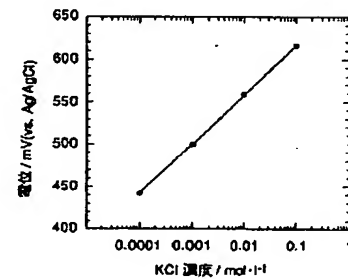


【図3】

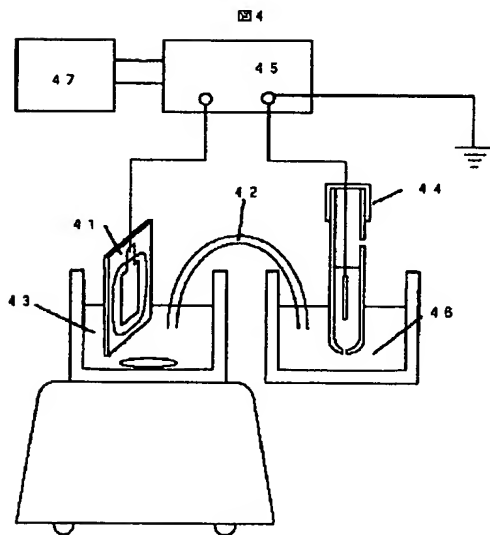


【図6】

図6



【図4】



【図5】

